高速イオン交換クロマトグラフィ用充填カラム

TSK－GEL IECタイプ

取扱説明書

（ステンレスカラム）

TOSOH

東ソー株式会社

ご使用の前に

¡本製品を使用する前に，必ずこの取扱説明書をよく読んで理解してください．
¡この取扱説明書は，手近な所に大切に保管し，必要なときにいつでも取り出せるようにしてください．
¡製品本来の使用方法および取扱説明書で指定した使用方法を守ってください．
¡本書の安全に関する指示に対しては，指示内容を理解の上，必ず従ってください．
以上の指示を必ず厳守してください．
指示に従わないと，けがや事故の恐れがあります．

【取扱説明書について】

¡取扱説明書の内容は，製品の性能・機能の向上により将来予告なしに変更することがあります．
¡取扱説明書の全部または一部を無断で転載，複製することは禁止しています．
¡取扱説明書を紛失したときは，巻末の連絡先までお問い合わせください．
¡取扱説明書の内容に関しては万全を期していますが，万一不審な点や誤り，記載漏れに気づいたときは，お手数ですが巻末の連絡先までご連絡ください．

安全上のご注意

- ご使用の前に，この「安全上のご注意」をよくお読みのうえ，正しくお使いください．
- この項目は，いずれも安全に関する内容ですので，必ず守ってください．
- 「警告」「注意」の意味は次のようになっています．

⚠ 警告	取扱を誤った場合，使用者が死亡または重傷を負う可能性が想定されるもの．
⚠ 注意	取扱を誤った場合，使用者が傷害を負う可能性が想定されるものまたは物的損害の発生が想定されるもの．

ご使用時

⚠ 警告

● 火気厳禁

- 引火性のある溶媒を使用する場合，火気の使用は厳禁です．火災，爆発の原因になります．

⚠ 注意

● 換気に注意を

- 引火性，毒性のある溶媒を使用する場合，充分換気をしないと火災，爆発，中毒の原因になります．

● 液漏れに注意を

- 溶媒等の液漏れは，感電，中毒，薬傷，火災，腐食などの原因になります．液漏れの場合は，適切な保護具を付けた上で，液を取り除いてください．

⚠ 注意

●保護具の着用を

- 有機溶媒や酸などの溶離液を取扱う場合は，保護メガネ，手袋などの保護具をご使用ください．薬傷を負う恐れがあります．

●取扱いに注意を

- 取扱いが不適切であると，カラムの性能を損なうことがあります．取扱いには充分注意してください．

●適切な使用方法を

- 本カラムは分離，精製等に用いるもので，それ以外の目的には使用しないでください．

●圧力に注意を

- 急激な圧力上昇は，カラムの性能を損なう原因になります．又，カラム材質により破裂，飛散等の可能性があります．規定以上の圧力にならぬように注意ください．適切な保護具を付けた上で，充分注意して作業を行ってください．

●分離精製物の取扱いに注意を

- 得られた分離精製物または精製溶液を製品及び中間体として使用する場合は，充分にその安全性の確認を行ってご使用ください．

●処分には適切な処理を

- 廃棄する場合は，産業廃棄物として適切な処理を行ってください．

【その他の注意】

- 警告表示ラベルが貼付されている製品は，表示内容を確認し，安全にご利用ください．
- 警告表示ラベルが，汚損または剥離し表示内容がわからなくなった場合には，当社窓口担当者までお申し付けください．貼り替え用ラベルをお送りいたします．
- 本書は大切に保存してください．また，ご利用者が代わる場合には次のご利用者にお渡しください．

取扱い上のご注意（出荷溶媒に関する注意）

応急措置	眼に入った場合	¡ 流水で15分以上洗眼する．その際は瞼を開き水が全面にゆきわたるように行う． ¡ 医師の手当てを受ける．
	皮膚に付着した場合	¡ 水等で洗い流し医師の手当てを受ける．（出荷溶媒：メタノール製品） ¡ 水等で洗い流す．
	吸入した場合	¡ 空気の新鮮な場所に移動しうがいを行い，医師の手当てを受ける．（出荷溶媒：メタノール製品） ¡ 空気の新鮮な場所に移動しうがいを行う．
	飲み込んだ場合	¡ 口腔を水洗し，医師の手当てを受ける．
取扱い及び保管上の注意	火気等の注意	¡ 火気の使用を禁じ火花の発生を防止するための防爆工具の使用及び接地等を行う．（出荷溶媒：メタノール製品）
	換気	¡ 発散源を密閉する設備または局所排気設備で換気する．（出荷溶媒：メタノール製品）
	身入り容器の取扱い	¡ 容器は破損につながる粗暴な取扱いをしない．（出荷溶媒：メタノール製品）
	身体の洗浄	¡ 取扱い後は顔，手，口等を水洗する．（出荷溶媒：メタノール製品）
	取扱い時の保護具	¡ 取扱いの際は耐油性ゴム手袋，保護メガネ及び有機ガス用，保護マスク，保護衣，長靴を着用する．（出荷溶媒：メタノール製品）
	危険有害物等の保管	¡ 火気，加熱，漏れ，こぼれ等に注意して保管する．（出荷溶媒：メタノール製品）
	保管温度条件	¡ 0℃付近で凍結することがあるので保管温度に注意する．（出荷溶媒：蒸留水製品およびDNA—NPR）
	空容器の保管	¡ 空容器は残存物の発散を防ぎ屋外の一定の場所に置く．（出荷溶媒：メタノール製品）
廃棄上の注意	処分方法	¡ 廃棄する場合は焼却設備等で少量ずつ焼却処分を行う．（出荷溶媒：メタノール製品）
	一般的な留意事項等	¡ 処分作業は可燃物，有害物の取扱い及び保管上の注意事項に留意して行う.（出荷溶媒：メタノール製品）
	空容器の処分	¡ 空容器を処分する場合は，水，蒸気等で十分に洗浄して残留物がないことを確かめた後に行う．（出荷溶媒：メタノール製品）

□出荷溶媒；メタノール
・品名：TSKgel DEAE–2SW，DEAE–3SW，CM–2SW，CM–3SW，SP–2SW，QAE–2SW

□出荷溶媒；蒸留水
・品名：TSKgel SCX，SAX，DEAE–5PW，SP–5PW，CM–5PW，SuperQ–5PW，DEAE–5PW，DEAE–NPR，SP–NPR，OApak–A，OApak–P

□出荷溶媒；20mmol/L Tris–$HClO_4$＋38mmol/L $NaClO_4$（pH＝9）
・品名：TSKgel DNA–NPR

取扱い上のご注意（充塡剤に関する注意）

応急措置	眼に入った場合	¡ 流水で15分以上洗眼する．その際は瞼を開き水が全面にゆきわたるように行う． ¡ 医師の手当てを受ける．
	皮膚に付着した場合	¡ 水等で洗い流す．
	吸入した場合	¡ 空気の新鮮な場所に移動しうがいを行う．
	飲み込んだ場合	¡ 口腔を水洗し，医師の手当てを受ける．
取扱い及び保管上の注意	火気等の注意	¡ 火気の使用を禁じ火花の発生を防止するための防爆工具の使用及び接地等を行う．（可燃性充塡剤）
	換気	¡ 換気設備などで換気する．
	取扱い時の保護具	¡ 取扱いの際は保護メガネ及び防じんマスクを着用する．
廃棄上の注意	処分方法	¡ 廃棄する場合は焼却設備等で少量ずつ焼却処分を行う．（可燃性充塡剤） ¡ 廃棄は焼却処分による．（難燃性充塡剤）
	一般的な留意事項等	¡ 処分作業は可燃物の取扱い及び保管上の注意事項に留意して行う．（可燃性充塡剤） ¡ 処分作業は取扱い及び保管上の注意事項に留意して行う．（難燃性充塡剤）
	処分上の注意	¡ 焼却処分する場合TSKgel SAX，DEAE–5PW，Super Q–5PW，DEAE–NPR，DNA–NPR，DEAE–2SW，DEAE–3SW，QAE–2SWは窒素酸化物ガス，TSKgel SCX，SP–5PW，SP–NPRは硫黄酸化物ガスを発生するので排ガス対策を行う．

□可燃性充塡剤；

・品名：TSKgel SCX，SAX，DEAE–5PW，SP–5PW，CM–5PW，SuperQ–5PW，DEAE–NPR，SP–NPR，DNA–NPR，OApak–A，OApak–P

□可燃性充塡剤；

・品名：TSKgel DEAE–2SW，DEAE–3SW，CM–2SW，CM–3SW，SP–2SW，QAE–2SW

目　次

1．はじめに……1
2．ご使用の前に……1
3．カラム各部の名称……1
4．装置へのセットと注意……2
5．カラムの保存方法……6
6．溶媒の選択……6
7．使用流速……8
8．使用温度……10
9．試料溶液の調製……10
10．理論段数，非対称係数および分離能の測定……11
11．ガードカラム……12
12．トラブル発生時の処置法……13
13．品質規格および保証……16
14．おわりに……18

1．はじめに

TSK-GEL IECは，高速イオン交換クロマトグラフィ用に開発された充塡カラムです．すなわち，高速イオン交換クロマトグラフィに適するようにデザインされていますので，塩濃度を自由に変えることができる（機械的強度を持つ）とともに，粒子径が小さく高分離能をもつことが大きな特徴です．

この高性能カラムの性能を充分に発揮させていただくために，ご使用の前に，この取扱説明書をよくお読みのうえ，正しくご使用くださいますようお願いいたします．

尚，OApakについては巻末で補足説明します．

2．ご使用の前に

まず，梱包状態およびカラムの外観に異常はないか確かめてください．

図1　梱 包 外 観 図

つぎに，カラムと別に次の品物が入っていますので，ご確認ください．

・取扱説明書…… 1 通
・検査票（INSPECTION DATA）…… 1 通

3．カラム各部の名称

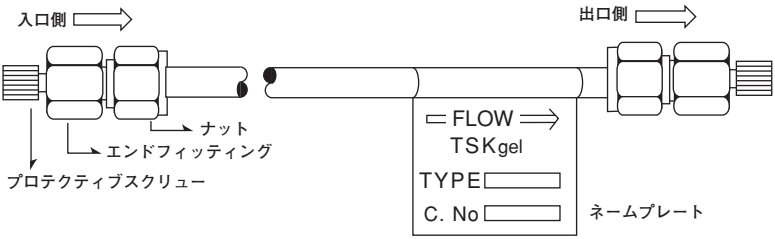

図2　スエジロックカラムの見取図

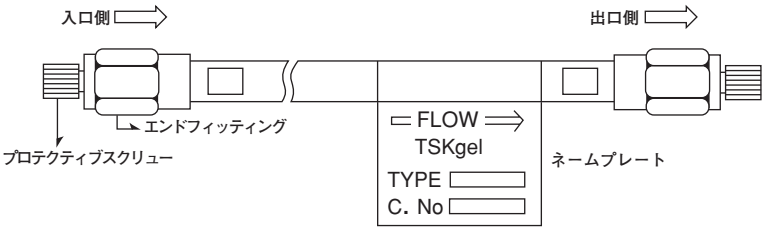

図3　セミミクロカラムの見取図

4．装置へのセットと注意

4-1　カラム部品の接続方式

ステンレスカラムにはスエジロック方式とネジ込み方式（セミミクロカラム）の2タイプがあり，インチ規格です．

4-2　カラムの通液方向

図2および図3に示した矢印の方向，すなわちネームプレートのFLOWの矢印のとおりに使用してください．逆方向に長時間液を流すと，カラムの性能低下をまねきます．

4-3　気泡の混入防止

カラムを装置にセットする際，また取りはずす際に，カラム内に空気を入れたいよう充分注意を払い，必ず装置の全配管系の気泡を除いた後，カラムを装置にセットしてください．カラム内に気泡を入れますとチャンネリング等により性能低下を引き起こします．

4-4　カラムの接続

4-4-1　エンドフィッティングより溶媒がにじみ出てくる場合

カラムは装置の全配管系の気泡を除いたことを確認して接続します．カラムの入口側のプロテクティブスクリューをはずしたとき，エンドフィッティングより溶媒がにじみ出てきた場合，先に述べたように気泡をカラムに入れないよう注意しながら装置に接続してください．

4-4-2　エンドフィッティングより溶媒がにじみ出てこない場合

カラム入口側のエンドフィッティングより溶媒がにじみ出てこない場合には，カラム出口側エンドフィッティングと装置を接続し送液ポンプにより溶媒を送り，逆方向への送液によって入口側エンドフィッティング付近の気泡を溶媒で押し出してください（この際，急激な加圧，あるいは送液は，カラムの性能低下をきたすことがありますので，溶媒は表１の適正流速の下限の1/2以下の流速で送り込んでください).

4-4-3　気泡が出ないことを確認したら

カラム入口側エンドフィッティングより気泡が出ないこと,および溶媒がにじみ出ることを確かめた後，カラムを正常な通液方向にして，入口側エンドフィッティングと装置を接続してください.

4-4-4　装置への接続と注意点

カラムと装置の接続は，1/16インチリードパイプを用いますが，デッドボリュームを少なくするためリードパイプの長さを短かくして，さらに，内径0.4mm以下のものを用いてください．リードパイプは，エンドフィッティングにいっぱいに差し込んだ状態でフェラルを固定してください．リードパイプとエンドフィッティングとの間にすき間があると，溶媒の流れが乱れ，分離能の低下をまねきます.

尚，TSKge1　DNA-NPRおよびセミミクロカラム（内径２mm）は，カラム内のバンドの広がりを最小限に抑えた構造を有しています．いずれのカラムもカラム容積が小さいため，カラム外でのバンドの広がりを最小限に抑えることにより，その性能を最大限に発揮することができます．以下の点について，ご配慮ください.

１）カラムコネクターのフェラル位置

カラムと装置の接続には，外径1/16インチのリードパイプを用います．フェラルの固定位置は，従来の当杜の先端部長さ（h＝４mm）とは異なり，図４に示すようにパイプ先端から２mmとなっていますのでご注意ください．先端部が長すぎたり短かすぎたりする場合，バンドの広がりの原因となり，十分な性能を維持することができなくなることがありますので注意が必要です.

２）接続パイプの先端部の加工

リードパイプの先端部端面は，図５のように加工精度を高くする必要があります．先端部が変形していたりつぶれている場合，バンドの広がりの一因となりますので注意が必要です．接続には，端面処理された当社カラムパイプをご使用いただければ，端面処理の心配はいりません.

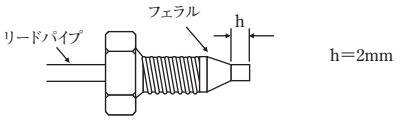

図4　NPRおよびセミミクロカラムにおけるコネクターフェラルの位置

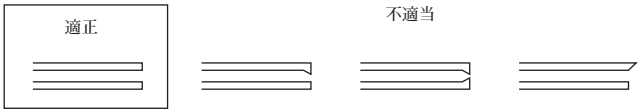

図5　接続パイプの端面加工

3）接続配管長さ（容量）

インジェクター／カラム及びカラム／検出器間の配管はできるだけ小さい容量を用います．容量ではいずれも2μl以下が好ましく，0.1mm内径の配管では長さ20cm以下が適当です．

4）検出器

フローセル容量は，2μl以下のフローセルが好ましく，高い性能を発揮できます．通常の8−10μl（ヒートシンク付き）のフローセルでは，バンドの広がりが大きく性能が低下します．ヒートシンクを取り外した場合，性能の低下率は，15%程度となります．

検出器の時定数は（50ms）に設定してください．（1.0s）では，20%程度性能が低下します．

4-5　測定開始前

カラムのセット終了後，測定を開始しますが，急激な加圧，送液はカラムの性能低下をまねきますので避けてください．とくに急激な圧力の立上がりを示す送液ポンプは使用しないでください．

4-6　脈流対策

一般にカラムは，脈流に対して影響を受けやすいので，充分に注意してください．送液ポンプは，脈動のないものを選んでください．もし脈動のあるポンプをご使用の場合は，パルスダンパ（アキュムレータ）をポンプ吐出側に接続して，脈流を消去してください．

4-7　HPLCシステム

グラジエント溶出をおこなう場合，（特にNPRおよびセミミクロカラムを使用する場合）デッドボリュームが小さく，高精度で再現性の高い高圧（吐出）グラジエント方式をおすすめします．

4-8　測定終了後

4-8-1　測定温度が室温より高い場合

測定終了後に，すぐにポンプを止めないで，カラムの温度が室温に下がるまで送液を続けてください．高温の状態でポンプを止めると，溶媒の収縮によりカラム内に気泡を引き込むことがあります．

4-8-2　測定が終了し，翌日も同一カラム系で測定される場合

全配管系の漏れがなければ，装置内にセットしたままで，翌日使用されてもかまいません．ただし，TSKgel SP-NPRは測定終了後，必ずアジ化ソーダを含む中性付近の緩衝液（例えばアジ化ソーダ0.02%を含む0.1mol/Lリン酸緩衝液pH7.0）でカラムを洗浄してください．

洗浄後，カラムを装置からはずし，両端をカラム納入時と同じようにプロテクティブスクリューを使って封をしてください．

4-8-3　溶媒として塩水溶液を使用している場合

全配管系を，蒸留水またはイオン交換水で洗浄してください．洗浄時の流速は，表１の適正流速の下限の1/2以下の流速でおこなってください．洗浄に要する液量は，カラムの容積分と配管系を置換するために必要な溶媒量以上とってください．

4-8-4　短期保存の場合（３日～１週間以内）

再使用までの期間が比較的短い場合には，蒸留水に置換後，カラムを装置からはずし，両末端をカラム納入時と同じようにプロテクティブスクリューを使って完全に封をしてください．

4-8-5　長期保存の場合（1週間以上）

再使用までの期間が長期にわたる場合には4-8-4項の方法では不十分です．ステンレスカラムの場合微生物の発生やカラムの材質の腐食によるカラム性能の低下が考えられますので，4-8-3項の操作で蒸留水に置換した後に検査表（INSPECTION DATA）のPACKED SOLVENTに記載されている溶媒を用いて置換し，4-8-4項と同様に，カラムを装置からはずし，両端をプロテクティブスクリューで封じて保存してください．

5．カラムの保存方法

5-1　保存方法

4-8項の作業を行った上で保存してください．

5-2　保存時の温度

カラムは室温にて，できるだけ温度差の小さい場所（恒温室）に保存してください．

カラムを０℃以下の場所に放置した場合には，凍結の可能性があり，カラムの劣化の原因となりますので，これは絶対に避けてください．

特にガラスカラムの場合，カラムの破損の原因にもなりますので注意してください．

5-3　直射日光

避けてください．

5-4　腐食性ガス

発生しない安全な場所に保存してください．

6．溶媒の選択

6-1　使用溶媒へ置換

カラムは，蒸留水または，水溶性有機溶媒などで充填されて出荷されています．（詳しくは，カラム添付資料の検査票（INSPECTION DATA）のPACKED SOLVENTの項を参照してください．）

使用溶媒への置換の前に，まず一度,蒸留水で置換を行い，その後に使用溶媒に置換してください．このときの流速は必ず，表１の適正流速の下限の1/2以下の流速で行ってください．また，TSKgel SCX，SAX，SP-5PW，DEAE-5PW，CM-5PW，SP-NPR，DEAE-NPR，DNA-NPRは，ポーラスポリマゲルで，水溶性有機溶媒による膨潤収縮が大きいため，頻繁な溶媒交換はカラムの性能低下をきたすことがあります．できるだけ，同一溶媒をご使用ください．

6-2　使用可能なpH範囲

下記範囲内のpHでご使用ください．

TSKgel SCX，SAX，SP–5PW，DEAE–5PW，CM–5PW，SP–NPR，
DEAE–NPR，DNA–NPR：pH2.0～12.0
SWタイプ誘導品：pH2.0～7.5

6–3　溶媒選択の注意事項

6–3–1　検出器との関係

試料と移動相の特性の差により定量を行うので，UVの吸収の差，屈折率の差に注意してください．RI検出器を使用する場合は，試料と屈折率の差の大きいもの，UV検出器を使用する場合は，測定波長において吸収の弱い溶媒を選択してください．

6–3–2　溶媒の粘度

粘度の高い溶媒を用いるときは，圧力損失が大きくなり，配管，ポンプ，カラムの劣化原因となりますのでご注意ください．

6–3–3　溶媒の沸点

室温（25℃）以上でご使用のときは，溶媒の沸点にご注意ください．

6–3–4　試料の溶解

試料が完全に溶解する溶媒を選択してください．試料が完全に溶媒に溶解しない場合，カラムのつまり，充塡剤の化学的劣化の原因となります．

6–3–5　有機溶媒の添加

水溶性有機溶媒の添加が可能です．

添加量は，TSKgel SCX，SAX，SP–5PW，DEAE–5PW，CM–5PWでは20%以下，SW誘導品は30%以下，TSKgel SP–NPR，DEAE–NPR，DNA–NPRは50%以下としてください．

（溶媒液への水溶性有機溶媒の添加においては，緩衝液中の塩が析出しないことを確認してください）

6–3–6　溶媒中の不純物

溶離液に使用した水や試薬中の不純物はゴーストピークの原因となるばかりではなく，カラムを汚染し，劣化を早めます．したがって，水は超純水，HPLC用蒸留水，注射用蒸留水などを，有機溶媒はHPLCグレードを使用し，試薬類はHPLCグレードまたは特級品を使用してください．また，溶離液はフィルタ（0.22 μmまたは0.45 μm）でろ過したものを使用してください．調製後 3 日以上経過した溶離液

の使用はさけてください．

6–3–7　ラインフィルタ

溶離液に含まれる微粒子や不純物がカラム内へ進入することを防止するため，インジェクションバルブと送液ポンプの間にラインフィルタ（フィルタアッセンブリ，品番14594と0.45 μmフィルタ，品番06280）を取り付けてください．フィルタの交換時期は，使用する溶離液の種類あるいは溶離液の通液量によって異なりますが，流速1.0ml/minで送液した場合に，装置配管系の圧力損失がラインフィルタ装着直後よりも，1.5〜2.5MPa上昇したときをフィルタ交換の目安としてください．また，フィルタ交換頻度が非常に多くなった場合は，フィルタ交換時にフィルタガードを超音波洗浄してください．詳細についてはフィルタアッセンブリに添付されている取扱説明書を参照してください．

6–4　脱気操作

溶媒の置換時（とくに有機溶媒添加系への置換時）および測定時に溶媒から気泡を発生し，カラム内へ気泡が混入することがあります．この気泡の発生を防ぐために，溶離液は充分に脱気を行ってください．

6–5　非多孔性充塡カラムに使用する溶離液の注意事項

非多孔性充塡カラム（TSKgel SP–NPR，DEAE–NPR，DNA–NPR）は汚れに対して非常に敏感です．充塡剤表面への微量吸着成分の蓄積，微粒子による充塡剤粒子間の目づまり等によりカラムの性能が低下しますと，再生が困難となります．したがって，このカラムを使用する場合は，6–3–6，6–3–7項の注意を必ず守ってください．

7．使用流速

7–1　流速設定について

使用流速は，分離能，測定時間，カラムの耐久性などを考慮して選択されます．流速が高いほど測定時間は短くなりますが，分離能は逆に流速が低いほど向上します．また，カラム耐久性の面からは流速が低い方が好ましく，トップオフ現象（カラム入口側にすき間の空く現象）を起こしにくい利点があります．

7–2　適正流速

表1に示すような適正流速で使用してください．最大流速以上，最大圧力以上で

のご使用は，避けてください．

7-3　溶媒の粘度

使用溶媒の粘度が低ければ，流速を高めにすることができます．逆に，溶媒の粘度が高ければ，流速を低目に設定してください．

表1　使　用　流　速

品　　名	カラムサイズ 内径(mm)×長さ(cm)	適正流速 (ml/min)	最大流速 (ml/min)	最大圧力 (MPa)
TSKgel SCX TSKgel SAX TSKgel SCX	6.0×15	0.5～1.0	1.2	15.0
	7.8×30			5.0
TSKgel SP-2SW TSKgel QAE-2SW TSKgel CM-2SW TSKgel DEAE-2SW	4.6×25	0.6～0.8	1.0	15.0
TSKgel CM-3SW TSKgel DEAE-3SW TSKgel SP-5PW TSKgel DEAE-5PW TSKgel CM-5PW TSKgel SuperQ-5PW	7.5×7.5	0.5～1.0	1.2	2.5
				1.5
				2.0
TSKgel CM-2SW TSKgel DEAE-2SW	7.8×30	1.0～1.5	3.0	6.0
TSKgel CM-3SW TSKgel DEAE-3SW TSKgel SP-5PW TSKgel DEAE-5PW TSKgel CM-5PW TSKgel SuperQ-5PW	21.5×15	4.0～6.0	8.0	2.5
				2.0
TSKgel SP-NPR TSKgel DEAE-NPR	4.6×3.5	1.0～1.5	1.5	20.0
TSKgel DNA-NPR	4.6×7.5	1.0～1.5	1.5	30.0
TSKgel DEAE-5PW	2.0×7.5	0.05～0.10	0.12	1.5
TSKgel SP-5PW	2.0×7.5	0.05～0.10	0.12	1.0
TSKgel DEAE-2SW	2.0×25	0.12～0.10	0.22	13.0

これらの流速は，約20℃の蒸留水または蒸留水に近い粘性をもつ水溶性溶媒での使用流速です．

8．使用温度

8-1　使用温度範囲

TSKgel SP-NPR，DEAE-NPRおよびDNA-NPRは，0～60℃，その他のカラムは，10～45℃の範囲でご使用ください．

8-2　加温状態で測定される場合

溶媒はよく脱気してご使用ください．加温状態での測定が終了したらカラム保護のため，4-8-1項の注意を必ず守ってください．

8-3　加温状態での測定の利点

主として次のような利点があります．

a　溶媒および試料の粘度が高いとき，加温により粘度を下げることができる．

s　室温使用のときより，理論段数が向上し分離能が高まる．

8-4　室温以下の低温で測定する場合

8-3項で述べた加温状態での利点と反対の欠点が生じます．また，溶媒および試料の粘度が高まるため，流速を室温の場合よりも低くすることが必要です．

9．試料溶液の調製

9-1　試料調製

溶離液を用いて調製してください．

9-2　試料溶液中に不溶分，ゲル分がある場合

遠心分離あるいはマイクロポアフィルタ（0.5μmなど）によるろ過精製を必ず行ってください．肉眼では見ることはできなくとも，不溶分が存在することも多いものです．試料は，マイクロポアフィルタでろ過されることをおすすめします．

9-3　試料溶液の組成

試料液の塩濃度，pH，有機溶媒の添加量を溶離液にあわせてください．

グラジエント溶出をおこなう場合は，初期溶離液にあわせてください．塩濃度の高い試料は，脱塩して注入してください．

また，溶離液と混合することによって，不溶性物質を生成するような試料は，注

入できませんので注意してください.

10. 理論段数，非対称係数および分離能の測定

カラムの理論段数，非対称係数，分離能および測定条件は，検査票（INSPECTION DATA）記載の通りです.

10–1　理論段数計算法

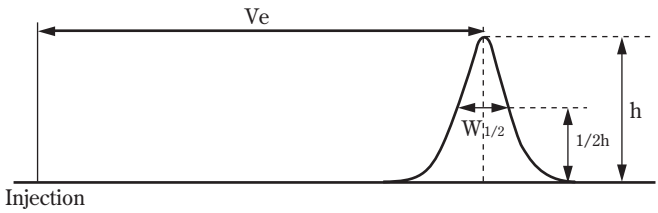

図 6　TSK–GEL 理論段数計算法

カラムの理論段数は，半値幅法により計算を行っており，カラム当りの段数で表示してあります.

$N = 5.54\ (Ve/W_{1/2})^2$

Ve	：	溶出時間	(min)
$W_{1/2}$	：	ピーク半値幅	(min)
h	：	ピーク高さ	
N	：	カラム当りの理論段数	

10–2　非対称係数計算法

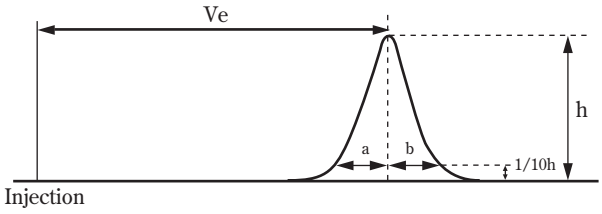

図 7　TSK–GEL　非対称係数計算法

カラムの非対称係数は，1/10h法により計算を行っています．

As＝b/a

As　：　非対称係数

10–3　分離能計算法

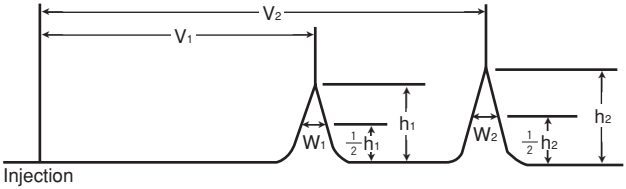

図 8　TSK–GEL　分離能計算法

カラムの分離能は，半値幅法により計算を行っています．

$Rs=2.0(V_2-V_1)/1.7(W_1+W_2)$

V_1　：　No. 1 ピーク溶出時間　（min）

V_2　：　No. 2 ピーク溶出時間　（min）

W_1　：　No. 1 ピーク半値幅　（min）

W_2　：　No. 2 ピーク半値幅　（min）

Rs　：　分離能

なお，カラム検定は，デッドボリュームを小さくした当社HLC装置で測定しています．

デッドボリュームの大きい装置を使用した場合，あるいは注入量を多くした場合は，規格値よりも低い理論段数，分離能を示すことがありますので，注意してください．

11. ガードカラム

試料中に吸着物質が存在する場合など，ガードカラムの交換のみで，吸着物質によるカラム性能の劣化を防ぐことができます．ガードカラムとして，ユーザーパッキング方式のTSKguardgelキットを用意しています．詳細は別のguardgel取扱説明書を参照してください．

ガードカラムの使用効果としては，

① 脈流，異常流速，圧力の増減による分析カラムのトップオフ防止
② 吸着性物質，不溶性物質のカットによる分析カラムの保護

などがあり，トラブル発生を防止できます．ただし，ガードカラムには吸着容量の限界があり，寿命があります．分析カラムに影響が及ぶ前に早めに交換することが必要です．

表2 ガードゲルキットおよびガードカラム

品番	品　　名	対象カラム 内径（mm）×長さ（cm）
07210 07211 13069 18388	TSKguardgel DEAE-5PWキット TSKguardgel SP-5PWキット TSKguardgel CM-5PWキット TSKguardgel SuperQ-5PWキット	TSKgel DEAE-5PW（7.5×7.5） TSKgel SP-5PW（7.5×7.5） TSKgel CM-5PW（7.5×7.5） SuperQ-5PW（7.5×7.5）
07644 07646	TSKguardgel SP-SWキット TSKguardgel QAE-SWキット	TSKgel SP-2SW（4.6×25） TSKgel QAE-2SW（4.5×25）
07648	TSKguardgel DEAE-SWキット	TSKgel DEAE-2SW（4.6×25）（7.8×30） TSKgel DEAE-3SW（7.5×7.5）
07650	TSKguardgel CM-SWキット	TSKgel CM-2SW（4.6×25）（7.8×30） TSKgel CM-3SW（7.5×7.5）
18253	TSKguardcolumn DNA-NPR	TSKgel DNA-NPR（4.6×7.5）
18390	TSKguardgel SuperQ-5PWキット	SuperQ-5PW（21.5×15.0）

12. トラブル発生時の処置法

TSK-GEL使用中もし下記のようなトラブルが発生した場合，以下の手順にしたがってチェックをし，適切な処置を行ってください．処置が適切であれば，元通りに近い性能に回復することがありますが，カラムの寿命，吸着物質，気泡の混入，乾燥，凍結等が原因の場合には，元通りの性能は得られませんので，カラムの取扱いには充分な注意を払ってください．

12-1 カラムエンドフィッティングトラブル

試料を注入後，急激に流量が低下した場合，同一流量でカラム購入時より大きく圧損が増大した場合，あるいはエンドフィッティングのスエジロックが破損した場合12-1-1～12-1-3項の処置や確認を行ってください．

12-1-1　つまり物の押し出しまたはエンドフィッティングの交換

カラムを装置より取りはずし，出口側エンドフィッティングをポンプ側配管に接続し通常の流速で送液して，入口側エンドフィッティングにつまったものをカラム外に押し出してください．この操作でつまったものが取れない場合，あるいはエンドフィッティングが破損した場合は，12-1-2項の手順にしたがってエンドフィッティングの交換を行ってください．

12-1-2　エンドフィッティングの交換

新しいエンドフィッティングを用意し，つまったエンドフィッティングをカラムより取りはずします．この際，ゲルが外部に漏れないよう細心の注意を払ってください．取りはずしたエンドフィッティングに残っているゲルを，新しいエンドフィッティングに移しカラムに取りつけます．ガラスカラムの場合は，エンドフィッティングは2.9N・m以下のトルクで締め付けてください．

12-1-3　エンドフィッティングの交換後

交換が終わりましたら，4-4-2項を参考にして，新しいエンドフィッティング側の気泡を取り除いた後，理論段数を測定し，段数の低下が起こってないか確認してください．

12-2　分離能が急激に低下した場合

カラム系の理論段数を測定してください．段数が正常であれば試料に原因があると思われますので，新しい試料を作り直してください．もし理論段数が異常であれば，カラムの性能低下と考えられますので以下の処置を行ってください．

カラム系の分離能が急激に低下する原因としては，12-2-1～12-2-3項が考えられます．

12-2-1　エンドフィッティングにゴミ等がつまり，流路に乱れを生じる場合

12-1項を参考にして，エンドフィッティングの洗浄または交換後，理論段数を測定してください．

12-2-2　カラム入口側のすき間（トップオフ）

急激な加圧，最高流速以上の流速がかかった場合，4-6項の脈流対策に関して考慮しなかった場合，あるいは交換可能以外の溶媒を流した場合には，カラムの入口側にすき間が生じる場合があります．

この場合，理論段数が極端に低下し（各グレードで，購入時の段数の30%以下），

かつ単分散試料のピークの形が大きくテーリングしたり，ピークが２つに割れたりしますので，入口側エンドフィッティングを取りはずしてください．すき間が空いていましたら，対象グレードのガードゲルまたは別売りのゲル（TSKge1 SCX，SAXについては，カラムと別にゲル（充填剤）を販売しております）をすき間につめてエンドフィッティングを取りつけてください．性能が回復する場合があります．

4-4-2項を参考にして気泡を取り除き，再び理論段数を測定してください．理論段数の回復が充分でない場合，再びエンドフィッティングを取りはずし，すき間があれば，うめて理論段数を測定してください．それでも回復しない場合,およびエンドフィッティングを取りはずしたときに，すき間が生じていない場合は，そのカラムは再生不能です．

12-2-3　吸着物質が蓄積した場合

この場合は12-3項を参考にしてください．

12-3　使用中に試料が吸着して溶出しないか，または溶出がいちじるしく遅れる場合

長時間繰り返して測定しているうちに，溶出挙動がいちじるしく変化する場合がありますが，このような現象は,試料中の微量吸着成分が充填剤表面に蓄積し表面状態が変化したために起こるものと考えられます．このような場合，性質の異なる溶媒で洗浄することにより分離能が回復することがあります．

下記に吸着の代表例を示します．

吸着現象と洗浄法

a　SW誘導品

１．イオン性吸着（イオン性物質の除去）
塩濃度を上げて適切なイオン強度にする．

２．疎水性吸着（疎水性吸着物質の除去）
水溶性有機溶媒を添加した溶離液を用いる．

３．水素結合性吸着（溶解性の小さいタンパク質の除去）
尿素を添加した溶離液を用いる．

４．塩基性物質の吸着
酸性水溶液（リン酸緩衝液pH2.5）を用いる．

これらの方法は，かなりきびしい条件ですので，上記の方法をすべて行いますと，頻繁な溶媒交換となり，カラムの劣化の原因となります．試料をよくご検討のうえ，最も適した方法で洗浄を行ってください．

s　PW誘導品およびNPRカラム（TSKgel SP-5PW，DEAE-5PW，CM-5PW，

SP-NPR，DEAE-NPR，DNA-NPR）

カラムをカラム内容積の２倍量の蒸留水で置換してください（置換方法および注意事項は，6-1項を参照ください）.

その後，サンプルループをカラム内容積の約１／10程度のループに替え，下記の溶液を数回注入してください.

１．0.1～0.2mol／1 NaOH水溶液
２．20～40%酢酸水溶液
３．水溶性有機溶媒を添加した溶離液
４．尿素，中性界面活性剤を添加した溶離液

これらの方法を１より順番に行い，各段階ごとに試料の溶出時間およびピーク形状が回復しているか確認してください.

13. 品質規格および保証

13-1 検査票（INSPECTION DATA）

検定条件，検定結果は検査票記載のとおりです．このなかで，理論段数はカラム当りの理論段数で，圧力は検定流速での圧力を表示してあります.

表３ 溶離液リスト

カラム	溶離液
TSKgel SP-2SW	1/20mol/Lリン酸緩衝液＋8.6%CH_3CN（pH3.0）
TSKgel CM-2SW	1/5mol/L酸緩衝液＋15%CH_3CN（pH5.O）
TSKgel CM-3SW	1/5mol/L酸緩衝液＋15%CH_3CN（pH5.O）
TSKgel QAE-2SW	1/15mol/Lリン酸緩衝液（pH6.4）
TSKgel DEAE-2SW	1/15mol/Lリン酸緩衝液（pH6.4）
TSKgel DEAE-3SW	1/15mol/Lリン酸緩衝液（pH6.4）
TSKgel DEAE-5PW	1/50mol/Lトリス－塩酸緩衝液＋0.035mol/L NaCl（pH8.0）
TSKgel SP-5PW	0.08mol/Lリン酸緩衝液（pH3.5）
TSKgel CM-5PW	0.01mol/L酸緩衝液（pH4.5）
TSKgel SP-NPR	蒸留水
TSKgel DEAE-NPR	蒸留水
TSKgel DNA-NPR	20mmol/Lトリス－過塩素酸＋38mmol/L過塩素酸ナトリウム（pH9.0）

13-2 品質規格

以下の規格で出荷されております.

表4　品　質　規　格

品番	品　　名	カラムサイズ 内径(mm)×長さ(cm)	理論段数 (TP/Co1umn)	非対称係数
07156 07157 07158	TSKgel SCX TSKgel SAX TSKgel SCX	6.0×15	2,000	0.8～1.6
		7.8×30	12,000	
07165 07166 07167 07168	TSKgel SP-2SW TSKgel QAE-2SW TSKgel CM-2SW TSKgel DEAE-2SW	4.6×25	5,000	
07162 07163 07161 07164 13068 18257	TSKgel CM-3SW TSKgel DEAE-3SW TSKgel SP-5PW TSKgel DEAE-5PW TSKgel CM-5PW TSKgel SuperQ-5PW	7.5×7.5	1,300	
07169 07170	TSKgel CM-2SW TSKgel DEAE-2SW	7.8×30	5,000	
06823 06825 07575 07574 18387 14021	TSKgel CM-3SW TSKgel DEAE-3SW TSKgel SP-5PW TSKgel DEAE-5PW TSKgel SuperQ-5PW TSKgel CM-5PW	21.5×15	3,000	
			2,500	
18249	TSKgel DNA-NPR	4.6×7.5	7,000	1.00～2.20
18757	TSKgel DEAE-5PW	2.0×7.5	1,300	0.8～1.6
18758	TSKgel SP-5PW	2.0×7.5	1,300	0.8～1.6
18761	TSKgel DEAE-2SW	2.0×25	5,000	0.8～1.6

備考：TSKgel SCX 7.8×30は，糖，有機酸用分析カラムです．

表5　品　質　規　格

品番	品　　名	カラムサイズ 内径(mm)×長さ(cm)	分　離　能 (Rs)
13076	TSKgel SP-NPR	4.6×3.5	≧10.0（トリプシノーゲン/α-キモトリプシノーゲンA）
13075	TSKgel DEAE-NPR	4.6×3.5	≧ 6.0（トリプシンインヒビター/卵アルブミン）

13-3 保　　証

① 現品到着後，検査票並びにこの取扱説明書に記載の条件で，カラムの理論段数および非対称係数をチェックしてください．当社の責任で規格値を外れている場合には良品と交換いたします．

② 輸送中の事故などで，カラムに破損が認められる場合には良品と交換いたします．

③ 上記，品質不良につきましては現品到着後，2 週間以内にご連絡ください．2 週間を過ぎた場合は良品としてお受取りいただいたものとみなします．

④ カラムの寿命については，保証の対象外といたします．

⑤ 商品の仕様は，改良のため予告なく変更することがあります．

14. おわりに

本取扱説明書の内容に関して，ご不明な点あるいはご質問等がありましたら巻末の連絡先にご連絡ください．

TSKgel OApak 取扱説明補足資料

1. はじめに

TSKgel OApakは，イオン排除クロマトグラフィーを利用した有機酸分析用に開発された充填カラムです．TSKgel OApakの取扱いは基本的には，TSK-GEL IECタイプと同様で，詳しくはIECタイプの取扱説明書を参照してください．ここでは特に，TSKgel OApakの取扱いに際しての注意のみを記載いたします．尚，必ずプレカラムとして，TSKgel OAPak-PをTSKgel OApak-Aの前に装着して使用してください．

6. 溶媒の選択

6-1 使用溶媒へ置換

カラムは，蒸留水で出荷されています．使用溶媒への置換の時の流速は必ず，表1の適正流速の下限の流速で行ってください．

TSKgel OApakは，ボーラスポリマゲルで，水溶性有機溶媒による膨潤収縮があり，頻繁な溶媒交換はカラムの性能低下をきたすことがあります．同一溶媒をご使用ください．

6-2 pH範囲

下記範囲内のpHでご使用ください．

TSKgel OApak：pH2.0～12.0

6-3 有機溶媒の添加

水溶性有機溶媒の添加が可能です．有機溶媒の添加許容量は，有機溶媒の種類により変化しますが，以下の目安で行ってください．

TSKgel OApak……20vol%以下

6-4 脱気操作

安定した測定ができるように，使用日ごとに脱気操作を行うことを，お勧めします．

7. 使用流速

表1に示すような適正流速で使用してください．最大流速以上，最大圧力以上でのご使用は，避けてください．

表1 使 用 流 速

品　　名	カラムサイズ 内径(mm)×長さ(cm)	適正流速 (ml/min)	最大流速 (ml/min)	最大圧力 (MPa)
TSKgel OApak-A	7.8×3.0	0.4～0.7	0.8	7.0

8. 使用温度

8-1　使用温度範囲

10℃以上60℃以下でご使用ください.

11. プレカラム

反応型や電気伝導度計を用いて有機酸を検出する際の試料中のカチオンによる妨害を防くために，プレカラムを必ず使用してください．また，プレカラムの使用効果としては，脈流，圧力の増減による分析カラムのトップオフ防止および吸着性物質（ポリカチオン等）からのカラムの保護などがあり，トラブル発生を防止できます．分析カラムに影響が及ぶ前に早めに交換することが必要です.

12. トラブル発生時の処置法

吸着現象と洗浄法

a　OApak-A

・イオン性吸着（イオン性物質の除去）

5 mmol/L硫酸，0.1%リン酸または5 mmol/L過塩素酸を通液して洗浄してください.

・疎水性吸着（疎水性吸着物質の除去）

水溶性有機溶媒を添加した溶離液を用いてください.

s　OApak-P

・OApak-Aと同様の洗浄溶媒でカラムの逆方向に通液してください.

・洗浄する際の流速は，OApak-AもOApak-Pも同様に0.5ml／min以下で通液してください.

13. 品質規格および保証

13-1　検査票（Inspection Data）

検定条件，検定結果は，検査票記載のとおりです．このなかで，理論段数はカラム当たりの理論段数で，圧力は検定流速での圧力を表示してあります.

13-2　品質規格

以下の規格で，出荷されております.

品番	品　　名	カラムサイズ 内径(mm)×長さ(cm)	理論段数 (TP/column)	非対称係数
16653	TSKgel OApak-A	7.8×30	15,000	0.7～1.6
16654	TSKgel OApak-P	6.0×4	—	—

以下の名称は東ソー株式会社の登録商標です.
HLC, TSK-GEL, TSKgel, TSKgel SuperMultipore,
BioAssist, Enantio, PStQuick,
エンバイロパック/Enviropak, トヨパール/TOYOPEARL, ToyoScreen,
TOYOPEARL GigaCap, トヨパールメガキャップ/TOYOPEARL MegaCap,
トヨパールパック/TOYOPEARLPAK, TOYOPAK

東ソー株式会社　バイオサイエンス事業部

東京本社　営業部　☎(03)5427-5180　〒105-8623　東京都港区芝3-8-2
大阪支店　バイオサイエンスG　☎(06)6209-1948　〒541-0043　大阪市中央区高麗橋4-4-9
名古屋支店　バイオサイエンスG　☎(052)211-5730　〒460-0003　名古屋市中区錦1-17-13
カスタマーサポートセンター　☎(0120)17-1200　〒252-1123　神奈川県綾瀬市早川2743-1

Printed in Japan